AUS DER I. MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄTSKLINIK DER CHARITÉ
IN BERLIN. DIREKTOR: GEH. MED.-RAT PROF. DR. HIS

ÜBER DAS VERHALTEN DER THROMBOCYTEN UND MEGAKARYOCYTEN BEI GESTEIGERTER UND GEHEMMTER ERYTHROPOESE

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT
ZU BERLIN

VON

RICHARD DUESBERG
AUS BAD KREUZNACH

TAG DER PROMOTION: 16. April 1930

VERLAGSBUCHHANDLUNG JULIUS SPRINGER IN BERLIN. 1930

246

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Friedrich
Referent: Prof. V. Schilling
Korreferent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. His

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus
„Zeitschrift für klinische Medizin", Bd. 112, H. 5 u. 6

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550822_0138

Im Jahre 1912 erschien eine Arbeit von *V. Schilling*-Torgau, welche der sehr umstrittenen Frage über die Herkunft der Blutplättchen eine Lösung zu geben schien. Auf histologische, klinische, physiologische und chemische Befunde gestützt, kommt Schilling zu der Ansicht, daß „bei normaler Entwicklung der eigentliche Kernrest des Erythrocyten das Blutplättchen ist, welches als physiologisch modifizierter, leicht abstoßbarer Plättchenkern nachgewiesen werden konnte". Diesen Feststellungen wurde durch spätere Arbeiten (*Schilling, Schilsky*), welche die Plättchenkerntheorie weiter argumentierten, Nachdruck verliehen.

Den sichersten Anhalt für diese Theorie boten histologische Bilder; es war *Schilling* gelungen, mit Hilfe einer besonderen Technik und Fixationsflüssigkeit die Blutplättchen im Augenblicke ihrer Loslösung vom Erythrocyten mikroskopisch darstellbar zu machen. Durch experimentelle und klinische Studien konnte ein Zusammenhang zwischen Erythropoese und Zahl der Blutplättchen nachgewiesen werden. In Fällen mit gehemmter Erythropoese tritt eine Verminderung, bei gesteigerter Erythropoese eine Vermehrung der Thrombocyten auf; die Verminderung der Thrombocyten wurde mit einer mangelhaften Einschwemmung junger Erythrocyten, die Vermehrung mit einer gesteigerten Einschwemmung junger Erythrocyten mit noch anhaftenden Kernchen in die Blutbahn erklärt. In letzteren Falle trifft man Plättchen, die kernähnlichere Formen angenommen haben und solche, die, abstammend von den bei starker Regeneration kreisenden großen Erythrocyten, als große Plättchen bzw. Riesenplättchen anzusprechen sind. Von *Deetjen* und *Kopsch* war früher schon betont worden, daß die Plättchen Kernstruktur aufweisen. Das chemische Verhalten der Thrombocyten spricht dafür, daß sie aus Kernsubstanz bestehen; sie sind resistent gegen Essigsäure, es

konnte Nuclein in ihnen nachgewiesen werden, sie sind mit Kernfarbstoffen färbbar. Vielleicht findet auch mit der Plättchenkerntheorie *Schillings* die Unklarheit der Auflösung des Kernes der Erythrocyten im Knochenmarke ihre Erklärung. *Rindfleisch* nahm an, daß der Kern ausgestoßen würde, *Köllicker* glaubte an eine intracelluläre Kernauflösung. *Schilling* glaubt, daß durch stets aufeinanderfolgende mitotische und amitotische Teilungen der Erythro- und Normoblastenkerne der Kern schließlich regenerationsunfähig ist, abgebaut und zum Plättchenkerne wird. *Engel, Jost* und *Helber* brachten den Nachweis, daß beim Embryo der Beginn der Entkernung der Erythroblasten zeitlich mit dem ersten Auftreten der Thrombocyten zusammenfällt.

Schilling entnahm bei Tieren mit kernhaltigen Erythrocyten mit seiner Technik Blut. Dabei erschienen die als physiologische Analoga der Blutplättchen bekannten Spindelzellen der niederen Tiere als ovale, scharf begrenzte Scheiben, die etwas kleiner als die Erythrocyten waren, aber in Struktur diesen sehr ähnlich sahen. „Die Spindelzelle erscheint wie ein hämoglobinloser gealterter Erythrocyt". Das Hämoglobin war aus dem geschrumpften Plasma ausgetreten, der Kern entspricht dem Erythrocytenkern. Entsprechend der Dauerkernigkeit der roten Blutkörper wird bei den Nonmammalia die Trennung zwischen Plättchenkern und Erythrocytenstroma nicht vollzogen. Auch *Gordon* vertritt die Ansicht, daß die Spindelzellen in genetischem Zusammenhange mit den Erythrocyten stehen. Die Tatsache, daß im ungeschädigten Gefäße beim lebenden Tiere Plättchen nur in geringer Anzahl beobachtet werden konnten, daß sie aber nach Gefäßschädigung in größerer Menge auftreten, ist ebenfalls erklärlich, wenn man annimmt, daß die Plättchen — im Augenblicke des Bedarfes — von den Erythrocyten sich losreißen.

Vermutungen, daß die Blutplättchen aus den Erythrocyten hervorgehen, waren schon früher von verschiedenen Autoren ausgesprochen worden. Mit größerer Sicherheit konnte diese Ansicht erst vertreten werden, als die Einheitlichkeit der Blutplättchen als dritter Formbestandteil des Blutes im Jahre 1882 durch *Bizzozero* erkannt und im Jahre 1909 durch *Aynaud* endgültig gesichert war. So wurde den Ansichten, daß die Thrombocyten ganz verschiedener Herkunft seien (*Arnold, Schwalbe*), Abschnürungen des Plasmas oder des Kernes der Erythrocyten, hämoglobinhaltig oder hämoglobinfrei, jede Grundlage entzogen. Einer der ersten, der die Ableitung des Blutplättchens vom Kerne der Erythrocyten histologisch nachzuweisen suchte, ist *Engel* (1893). Er wollte den Austritt *mehrerer* Thrombocyten (Granaten) aus *einem* Erythrocyten beobachtet haben; bei diesem Vorgange sollte der vorher kugelige Erythrocyt flache Form angenommen haben. *Hirschfeld* wies aber nach, daß die „Granaten" sich aus künstlichen Anklebungen zusammensetzten. *Maximow* beschrieb 1899 ein im Innern der jungen kernlosen

Erythrocyten liegendes, körniges Gebilde. Er spricht die „allerdings durchaus unbewiesene Vermutung" aus, daß dieses körnige Gebilde aus den Erythrocyten als Blutplättchen hervortreten könne; er ist also der erste, der die Thrombocyten bei ihrer Losreißung vom Erythrocyten gesehen und als Kernreste gedeutet hat. *Preisich* und *Heim* (1904) gaben an, die Entstehung der Blutplättchen aus dem Erythroblastenkern und den Austritt der Thrombocyten aus den Erythrocyten beobachtet zu haben. *Helber* (1905) bringt auf Grund seiner Untersuchungen zum ersten Male den Namen Kernplättchen und weist auf den Zusammenhang der Zahl der Thrombocyten mit der Erythropoese hin. Seit den Arbeiten *Boettchers* (1863) wurde von zahlreichen Autoren unter immer wieder anderen Namen (Pseudokerne, Nucleoide, Innenkörper u. a.) ein besonderer Strukturbestandteil des Erythrocyten beschrieben. Dieser wurde mit dem Kerne des Erythrocyten in Zusammenhang gebracht und oft als Kernrest desselben angesprochen. *Hirschfeld* glaubte, daß dieses „Nucleoid" zum Thrombocyten wird; seiner Ansicht schloß sich *Pappenheim* an. Beide setzten das Nucleoid dem von *Maximow* beschriebenen im Inneren des jungen Erythrocyten liegenden körnigen Gebilde gleich, während aber *Maximow* in seinen Bildern wahrscheinlich die Kernplättchen vor sich hatte (siehe oben). Auch *Schilling* machte Untersuchungen über diesen besonderen Strukturbestandteil des Erythrocyten; er differenzierte ihn genauer und im wesentlichen stimmt sein „Kapselkörper" mit dem „Nucleoid" überein. Er konnte aber nachweisen, daß dieser nicht ein Kernrest, sondern eine paranucleäre Struktur protoplasmatischer Abkunft wie der Nebenkern dauernd kernhaltiger Zellen ist, daß er sowohl im kernhaltigen, als auch im enucleierten Erythrocyten sich findet. Der Kapselkörper ist also nicht identisch mit dem Kernrest der Erythrocyten, welcher nach seiner Auffassung das Blutplättchen ist. In letzter Zeit setzten *Gutstein* und *Wallbach* diesen Kapselkörper (nach ihrer Nomenklatur Innenkörper + Innenkörperchen) wieder in unrichtige Parallele mit dem Plättchenkern, indem sie die Annahme aussprachen, daß *Schillings* Plättchenkern ein veränderter Innenkörper sei, obwohl *Schilling* ausdrücklich den stark chromatin-azurfärbbaren, kernartig strukturierten, dem Erythrocyten auf- oder anliegenden Plättchenkern von dem unfärbbaren homogenen Kapselkörper schon in seinen früheren Arbeiten getrennt hatte. Außerdem konnte in den Präparaten von *Gutstein* und *Wallbach* der Plättchenkern überhaupt nicht mehr vorhanden sein und nachgewiesen werden, da er sich ja entsprechend der Theorie *Schillings* längst von dem Erythrocyten getrennt haben mußte.

Einige Variationsmöglichkeiten des einen zugrundeliegenden Gedankens, nämlich der Ableitung des Blutplättchens vom Erythrocyten sind hier kurz angeführt worden. Viele der einzelnen Ansichten wurden

im Laufe der Zeit histologisch widerlegt, ein umfassenderer Beweis fehlte allen. *V. Schilling* hatte der Vorstellung, daß die Blutplättchen von den Erythrocyten abstammen, mit der Plättchenkerntheorie einen Abschluß gegeben.

Die Plättchenkerntheorie *Schillings* ist nicht ohne Widerspruch geblieben. *Rosental* und *Falkenheim* schlossen aus der Beobachtung über die verschiedene Wirkung der mit Blutplättchen und der mit Erythrocyten gewonnenen Sera, daß ein näherer zellverwandtschaftlicher Zusammenhang zwischen Erythrocyten und Thrombocyten nicht bestehen könne und lehnen aus diesem Grunde eine erythrocytäre bzw. erythrocytär-cariogene Abstammung des Blutplättchens ab. *Schilling* entgegnete diesen Befunden mit der Überlegung, daß ein reifer Erythrocyt seiner Theorie entsprechend den Kern abgestoßen hat, also mit dem Plättchen keine gemeinsame Substanz mehr besitzt. Auf Einwände von *Brieger* und *Degwitz* wird im weiteren Verlauf der Arbeit eingegangen werden. In besonders scharfem Gegensatze stand die Theorie *Schillings* zu der von *Wright* 1906 veröffentlichten Ansicht, daß die Blutplättchen von den Megacaryocyten, den Knochenmarksriesenzellen abstammen. Der Kern dieser Zellen ist von einem gewaltigen Protoplasmaleib umgeben, welcher in seinem Inneren eine feine azurophile Granulierung erkennen läßt. Bei der jungen Riesenzelle ist die Granulation um den Kern gelagert, bei der reifen Zelle erfüllt sie das ganze Protoplasma, wobei nach der Peripherie zu eine Felderung der Granulation (*Schridde*sche Granula) auftritt. Die Knochenmarksriesenzelle streckt nach der Ansicht *Wrights* kraft ihrer amöboiden Bewegungsfähigkeit pseudopodienartige Fortsätze, die umgeben von hyalinem Protoplasma in ihrem Inneren azurophile Granula enthalten, durch feine Lumina der Gefäßwände in die Knochenmarkscapillaren hinein. Dort lösen diese sich ab und gelangen so als Thrombocyten in die Blutbahn. Mit histologischen Bildern, die aus Schnittpräparaten des Knochenmarks gewonnen waren, suchte *Wright* seine Theorie zu beweisen; seiner Ansicht pflichten heute die meisten Autoren bei, gestützt in letzter Zeit auch auf die Behauptung, daß bei Zunahme der Plättchenzahlen auch die Zahl der Megarcaryocyten im Knochenmarke zunimmt. *Schilling* brachte den Einwand, daß die Granula der Riesenzellen deutlich feiner seien und sich auch färberisch anders verhielten als die Granula der Plättchen. *Naegeli*, *Seeliger* u. a., die sich zur *Wright*schen Theorie bekannt hatten, mußten diesen Befund bestätigen. *Seeliger* findet eine Erklärung für die Verschiedenheit der Granula darin, daß die feingranulierten Megacaryocyten sich im Ruhezustande befänden, zur Zeit der Reife der Riesenzellen, also der Zeit, in der sie Plättchen bilden, sei die Granulation gröber. Nach den ersten Angaben *Wrights* kann man sich das Eintreten der Thrombocyten in die Blutbahn nur so vorstellen, daß die Abreißung von Pseudopodien

der Knochenmarksriesenzellen in den Capillaren eine ganz zufällige und regellose ist. Die konstante Zahl von Thrombocyten im peripheren Blute war mit dieser Vorstellung schwer in Einklang zu bringen. Hieraus erklären sich die verschiedenen Modifikationen, die die Theorie *Wrights* im Laufe der Zeit erfuhr. *Ogata* nimmt an, daß der ganze Protoplasmaleib der Riesenzellen sich in Plättchen auflöse, die sich dann bei der Zellreife in die Blutbahn entleeren sollen. *Seeliger* und *Frank* glauben, daß die Riesenzelle sowohl durch Pseudopodienabschnürung als auch durch teilweisen Zerfall größerer Protoplasmateile Thrombocyten liefern könne. *Wittkower* will in Zitratpräparationen des Knochenmarkes Megacaryocyten, die mit Thrombocyten besetzt sind, gesehen haben. *Gaspar* versuchte nachzuweisen, daß *ein* größerer schweifartiger Fortsatz von dem Megacaryocyten ausgestreckt würde, nur in diesem die Felderung einträte und die Abschnürung von Plättchen vor sich ginge. Die *Wright*sche Theorie setzte die Spindelzellen der Nonmammalia in Analogie zu den Megacaryocyten der Säugetiere; nach *Schilling* und *Gordon* sind aber die Spindelzellen erythrocytärer Herkunft (s. o.). *Stahl*, *Horstmann* und *Hilsnitz* fanden bei Jodfärbung zum Glykogennachweis in den Megacaryocyten die gleichen scholligen Gebilde wie in den Plättchen; auch hierdurch sollte die Abstammung der Thrombocyten von den Riesenzellen wahrscheinlich gemacht werden. Aber auch in älteren Erythroblastenkernen fanden sich diese Schollen und nach *Schillings* Theorie sind es gerade die älteren Kerne, aus denen die Thrombocyten entstehen. *Rokay* prüfte unter *Schillings* Anleitung den Glykogengehalt der Riesenzellen und Thrombocyten nach und konnte ihn in beiden nachweisen; aber eine Bildung von Glykogenschollen in den Riesenzellen, wie sie bei der Felderung derselben auftreten soll, konnte nicht beobachtet werden. Andererseits konnte *Schilling* in den Spindelzellen des Puters Glykogenschollen durch Jodfärbung zur Darstellung bringen. *Seeliger* berichtet über die Phagocytose der Riesenzellen. Er bringt mit histologischen Bildern den Nachweis, daß die Megacaryocyten alle Blutzellen phagozitieren und daß bei dieser Funktion in den Riesenzellen ebenfalls eine grobe Granulierung und deutliche Granulafelderung eintritt. Er bringt hiermit also den Nachweis, daß die Felderung kein für die Plättchenbildung spezifischer Vorgang ist; auch ist es schwer verständlich, daß die Riesenzellen alle Blutzellen phagocitieren können mit Ausnahme der Thrombocyten, deren Bildner sie sein sollen. In letzter Zeit hat *Frey* an einem Sektionsmaterial von 50 Fällen das qualitative und quantitative Verhalten der Megacaryocyten untersucht. Er findet bei allen pathologischen Vorgängen, die mit einem erhöhten Verbrauch und einer Vermehrung der Thrombocyten einhergehen, eine Zunahme der Zahl der Riesenzellen. Die Befunde *Freys* werden im weiteren Verlauf der Arbeit besprochen werden.

In den folgenden Ausführungen soll über Versuche berichtet werden, die mit der Absicht, das Verhalten der Thrombocyten und Megacaryocyten bei gesteigerter und gehemmter Erythropoese zu beobachten, angestellt worden sind. Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Bei diesen wurde die Zahl der Erythrocyten und Reticulocyten, der Leucocyten, der Thrombocyten und der Hb.-Wert täglich festgestellt. Die Thrombocyten wurden im Fonioausstrich, die Reticulocyten nach Vitalfärbung mit Brillantkresylblau gezählt. Mehrmals während eines Versuches wurde aus der Ohrvene der Tiere mit der von *Schilling* angegebenen Technik (Dominici-Fixativ) Blut entnommen und nach den Angaben *Schillings* weiterbehandelt. Die Tiere wurden meist mehrere Wochen hindurch behandelt und kontrolliert. Nach Beendigung eines Versuches wurden die Tiere getötet und sofort Tupfpräparate von Knochenmark,

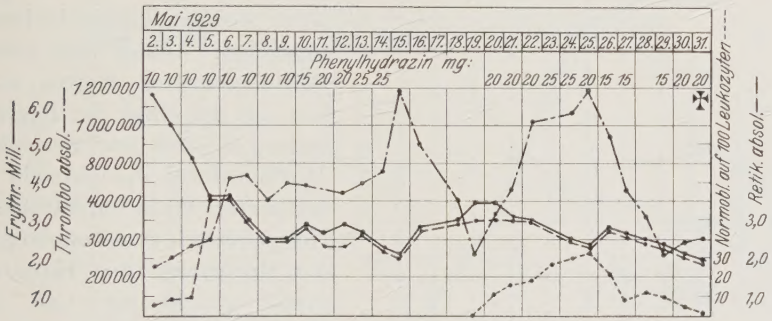

Abb. 1.

Leber und Milz hergestellt, die nach Giemsa gefärbt wurden. Außerdem wurden Teile von Knochenmark, Leber und Milz in Sublimateisessig oder Formalin fixiert und später in 4—5 μ dicken Schnitten mit Giemsa oder Hämalaun-Eosin gefärbt.

Den Typ einer chronischen Phenylhydrazinvergiftung stellt Abb. 1 dar. Sie entspricht den Zahlenwerten eines von 3 Kaninchen und weicht in ihrem Verlaufe von den Kurven der anderen Tiere nicht wesentlich ab. Die Hb.-Werte gingen der Erythrocytenzahl ungefähr parallel und sind nicht miteingezeichnet. Die Zahlen der Reticulocyten und der Thrombocyten sind absolut. Die Zahl der Leucocyten wies im Verlaufe des Versuches nur geringe Schwankungen auf; auch sie wurde auf der Kurve nicht vermerkt.

Es fiel auf, daß bei gleichbleibender Dosierung nach anfänglichem starkem Sturz der Erythrocyten die Zahl derselben nicht mehr so rapid weiter abfiel. Es war bald nach Beginn der Anämisierung in allen Versuchen eine außerordentliche Vermehrung der Reticulocyten aufgetreten, bis schließlich in jedem Erythrocyten die Substantia reticulo-filamen-

tosa nachgewiesen werden konnte. Offenbar war also die Tätigkeit des Knochenmarks sehr stark gesteigert, zur weiteren Anämisierung waren größere Dosen Phenylhydrazin notwendig. Der niedrigste Stand der Erythrocyten traf mit dem höchsten Stand der Thrombocyten zusammen. Es wurden Thrombocytenwerte von nahezu 1200000 im Kubikmillimeter beobachtet, das Verhältnis der Erythrocyten zu Thrombocyten war oft 1 : 1. Aus der Kurve ist ersichtlich, daß nach dem ersten Anstieg der Blutplättchen einige Tage kein Phenylhydrazin gespritzt wurde. Es ist bemerkenswert, daß mit einer hierauf folgenden Verminderung der Reticulocyten — das Knochenmark schickte wieder reife Erythrocyten in die Blutbahn — auch die Zahl der Thrombocyten abnahm. Nach kurzer Erholung wurden dem Tiere hierauf größere Mengen Phenylhydrazin zugeführt. Analog dem ersten Plättchenanstieg wurde auch hier auf der Höhe der Regeneration, die sich jetzt besonders deutlich durch die nunmehr im peripheren Blute aufgetretenen Normoblasten zu erkennen gab, die Höchstzahl der Thrombocyten gleichzeitig mit der Höchstzahl der Normoblasten erreicht.

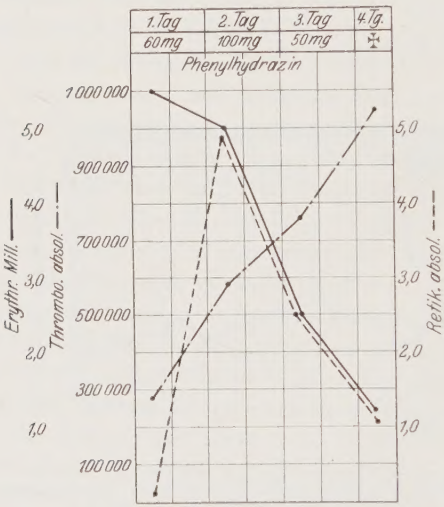

Abb. 2.

Um eine Vorstellung über die Schnelligkeit der Plättchenbildung zu erhalten, wurde ein Tier mit großen Phenylhydrazindosen akut vergiftet. Die Erythrocytenzahlen sanken nach 60 und 100 mg in 2 Tagen von 5,5 Mill. auf 2,2 Millionen. Einen Tag nach der Injektion waren keine reifen Erythrocyten im peripheren Blute mehr vorhanden, in allen Blutkörperchen konnte die Substantia reticulo-filamentosa nachgewiesen werden; offenbar waren alle reifen Erythrocyten zerstört und durch junge Reticulocyten ersetzt. Gleichzeitig mit dieser enormen Regeneration setzte eine Vermehrung der Blutplättchen ein, das Verhältnis der Erythrocyten zu den Thrombocyten war nahezu 1 : 1 (Abb. 2).

Durch Injektion von Saponin (Sap, pur. alb. Merck) wurde versucht, den Typ einer degenerativen Anämie darzustellen (Abb. 3). Es wurde eine Anämie bis zu 52% Hb. und 2,8 Mil. Erythrocyten erreicht, der F.-I. stieg im Laufe des Versuches langsam von 0,65 auf 0,93 an. Die Zahl der Reticulocyten nahm bei fortgesetzten Injektionen langsam ab,

ungefähr parallel mit dem Absinken der Reticulocytenzahlen fallen die Plättchenwerte. Setzt man einige Tage die Saponininjektion aus, so nimmt die Regeneration parallel mit der Plättchenzahl zu.

Wenn wir nun die Größe und Struktur der Blutplättchen vom Beginne bis zur Höhe der Anämisierung und der damit verbundenen gesteigerten oder gehemmten Erythropoese beobachten, so ist folgendes auffallend: Das mit Phenylhydrazin noch nicht behandelte Tier zeigt im Fonioausstrich gleich große, gleich strukturierte Plättchen. Der Ausstrich zeigt gleich große Erythrocyten. Nach etwa 8 Tagen der Anämisierung ist im Ausstrich eine deutliche Anisocytose aufgetreten. Es finden sich neben normal großen Erythrocyten viele bedeutend größere, basophil gefärbte. Entsprechend dieser Anisocytose sind in diesem Stadium die Thrombocyten von verschiedener Größe und Struktur: zum

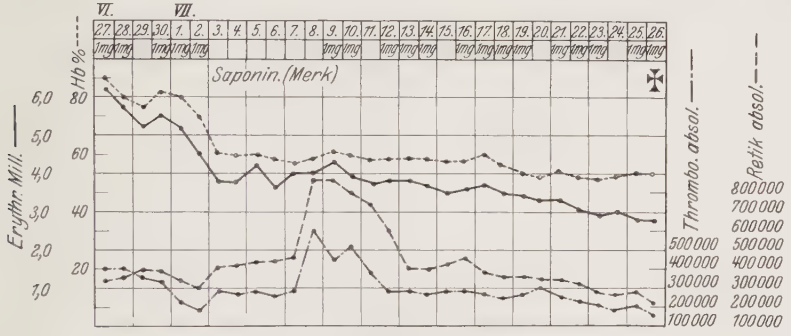

Abb. 3.

Teil entsprechen sie in dieser Hinsicht den normalen Plättchen, zum Teil sind sie bedeutend größer, dichter mit gefärbten gröberen Granula ausgefüllt: Riesenblutplättchen. Beim höchsten Grade der Anämisierung haben die meisten Plättchen dieses Aussehen. Die Erythrocyten sind jetzt fast alle auffallend groß, violett gefärbt, die basophile Punktierung ist so grob geworden, daß sie schon im Giemsaausstrich zutage tritt. Der Protoplasmaleib der Normoblasten ist unverhältnismäßig groß, unscharf begrenzt, violett gefärbt, mit grober basophiler Punktierung; der Kern ist im Sinne des Radspeichenkernes strukturiert, es finden sich häufig mitotische Kernformen. Von *Schilling*, *Degwitz*, *Stahl* ist das Auftreten großer Thrombocyten in der Regenerationsperiode beobachtet und beschrieben worden. Gewiß ist es nicht denkbar, daß die Riesenblutplättchen, die oft die Größe eines Normocyten erreichen, von diesen abstammen können. Beachtet man aber die auffällige Größenzunahme der Erythrocyten und ihrer Kerne bei fortschreitender Anämisierung, so bleibt die Zunahme der Größe des Thrombocyten nicht unverständlich.

Bei den mit Saponin behandelten Tieren machte sich zu Ende des Versuches ebenfalls ein Größenunterschied der Thrombocyten bemerkbar; es fanden sich einige, die normal groß und größer, mehr solche, die kleiner als normale Thrombocyten waren. Oft waren sie nicht mehr als runde, sondern unregelmäßig begrenzte Scheibchen erhalten; sie enthielten wenige und schlecht gefärbte Granula. Gegen Ende der Vergiftung mit Saponin waren im Ausstrich reichlich Normoblasten aufgetreten. Die Normoblasten waren klein, ihr Kern homogen dunkel gefärbt, das Plasma scharf begrenzt, rötlich gefärbt: Degenerationsformen. Es bestanden ebenfalls erhebliche Größenunterschiede der Erythrocyten: viele Microcyten, Poikilocyten, vereinzelt enorm große Erythrocyten (Megalocyten). Die Erythrocyten waren ausnahmslos hellrot gefärbt. Junge basophile oder reticulierte Erythrocyten waren in dem nach Giemsa gefärbten Ausstriche nicht, im Vitalausstrich spärlich vorhanden.

Am besten konnte die Struktur der Plättchen an Präparaten, die mit der von *V. Schilling* angegebenen Methode mit Dominici-Fixativ gewonnen waren, beobachtet werden. Methode: Eine etwa 30 cm lange Glasröhre, die einen Durchschnitt von etwa 4 mm hat, wird in der Mitte erhitzt und über der Flamme ausgezogen, so daß an dieser Stelle eine 1–2 cm lange Verengerung der Röhre (auf 2 mm) entsteht. Unmittelbar unterhalb dieser Verengerung wird eine kleine Öffnung in die Glasröhre gebohrt, in dieser eine Kanüle, wie sie zur Venenpunktion gebräuchlich ist, mit Leukoplast und Paraffin luftdicht so befestigt, daß sie in spitzem Winkel (etwa 60°) zum oberen Ende der Glasröhre steht. Das stumpfe Ende der Kanüle ragt eben in die Glasröhre hinein. Das obere Ende der Röhre wird durch einen etwa 50 cm langen Schlauch, an welchem eine Klemmvorrichtung angebracht ist, mit einem Trichter verbunden, ihr unteres Ende reicht in einem kleinen Erlmeyerkolben hinein, in welchem das Glasrohr durch Korkstopfen gehalten wird. Das Innere der Kanüle wird vor jeder Entnahme gut paraffiniert. Zur Herstellung des Fixativs nimmt man 10 ccm Jodtinktur und vermengt diese mit 90 ccm heißgesättigter Sublimatlösung; der hierbei auftretende schmutzigbraune Niederschlag wird abfiltriert, das klare goldgelbe Filtrat als Fixationsflüssigkeit benutzt. Vor der Blutentnahme wird das richtige Funktionieren der Apparatur ausprobiert, in dem man die Fixationsflüssigkeit vom Trichter aus durch die Röhre strömen läßt. Durch die Kanüle muß dann in sichtbaren Blasen Luft zu dem in den Kolben hinabfließenden Fixativ eingesaugt werden (Prinzip der Wasserstrahlpumpe). Man läßt einen Teil der Flüssigkeit durch Abklemmen des Schlauches in dem Glasrohr stehen. Nun wird die Kanüle in die Randvene des vorher rasierten und gereinigten Kaninchenohres eingestoßen. Im Augenblicke des Einfallens in die Vene wird die Klemme unterhalb des Trichters geöffnet, das Fixativ fließt in raschem Strome an der Öffnung der Kanüle vorbei, aus welcher

Blut angesaugt und mitgerissen wird. Das Blut gerinnt, wie man schon in der Glasröhre beobachten kann, sofort zu kleinen gelben Flöckchen. Noch vor vollständiger Entleerung des Trichters wird die Kanüle aus der Vene herausgezogen. In dem Kölbchen befindet sich nun die Fixationsflüssigkeit, durchsetzt mit feinen Blutflöckchen, die sich nach kurzer Zeit auf dem Boden absetzen. Nach wenigen Minuten werden die Flöckchen abzentrifugiert, das Fixativ abgesaugt, die Flöckchen mehrmals mit Aqua. dest., hierauf, um das Jod möglichst zu entfernen, mit einer 0,3proz. Natriumthiosulfatlösung, und dann wieder mit Aqua. dest. gewaschen und zentrifugiert. Das Zentrifugat besteht nun aus einer feinkrümeligen, hellgelb gefärbten Masse. Diese wird mit Platinöse auf gut entfettete Objektträger fein verteilt, auf diesen trocknet sie 12 Stunden im Brutschrank, wird dann in Methylalkohol fixiert und nach Giemsa (1 Tropfen Giemsalösung auf 1 ccm Aqua. dest. (neutral!), Färbedauer 2 Stunden, in der Cuvette gefärbt.

Das beim unbehandelten Tiere entnommene Blut zeigt die Plättchen als dunkelrot bis violett gefärbte, scharf begrenzte, gleich große, runde Gebilde. Im Gegensatz zu den Plättchen des Fonioausstriches, in denen die azurophilen Granula in den Thrombocyten zerstreut liegen, erscheinen die mit dieser Methode gewonnenen Thrombocyten als Scheibchen, die in ihrem Innern die Granula nicht einzeln erkennen lassen; vielmehr sind die Granula zu einem runden, dunkelviolett gefärbten Gebilde ineinander verschmolzen, das in seinem Innern einzelne Aufhellungen erkennen läßt. Ihr Aussehen ist am besten dem eines Normoblastenkernes zu vergleichen. Zur Zeit der stärksten Regeneration und höchsten Plättchenzahl sind die Thrombocyten kaum kleiner als ein Normoblastenkern und in ihrer Struktur von einem solchen nicht zu unterscheiden. Es war oft so, daß nur die Gewißheit, daß entweder *keine* Normoblasten im Blute kreisten, oder bedeutend weniger als normoblastoide Plättchen gefunden wurden, vor einer Verwechslung mit Normoblasten schützte. Denn auch die Lage der meisten dieser Plättchen war bei fehlerfrei entnommenem Blute meist in der Mitte, seltener näher an der Peripherie des Erythrocyten (Abb. 4 und 5). Lagen sie außerhalb des Erythrocyten, so lagen sie meist *allein*, selten zu zweit beieinander (Abb. 6). Den Versuchen sind bei der Entnahme öfters Fehler unterlaufen: nicht sofortiges Anstechen der Vene, so daß Gewebssaft in die Kanüle eindrang, mangelhafte, nicht sofortige Vermengung des Blutes mit dem Fixativ, Verunreinigungen der Kanüle usw. Diese Fehler sind für die Sicherstellung der Plättchenkerntheorie ein glücklicher Umstand gewesen: denn es zeigte sich bei fehlerhafter Entnahme, daß die Blutplättchen stets außerhalb der Erythrocyten, oft viele verklumpt auf einem Haufen lagen, und daß ähnlich wie im Fonioausstrich eine in einzelne Granula zerfallene Struktur erkennbar war. Es kann also nicht als Zufall gedeutet werden,

wenn die Blutplättchen bei exakter Entnahme normoblastoides Aussehen hatten, einzeln und *in* den Erythrocyten lagen, bei Fehlern, welche im Sinne einer Gerinnung eine Schädigung bedeuten, die Granulastruktur auftrat und die Plättchen zu mehreren verklumpt und außerhalb der Erythrocyten liegend gesehen wurden.

An dieser Stelle sei auf einige Einwände von *Brieger* und *Degwitz* eingegangen. Die nach *Dominici* fixierten Präparate zeigte die Erythrocyten in runder, bis elliptischer Form, also in kaum verändertem, natürlichem Zustande. Die granulierten Leucocyten waren in den Präparaten deutlich als Stab- oder Segmentkernige zu differenzieren, Protoplasma und

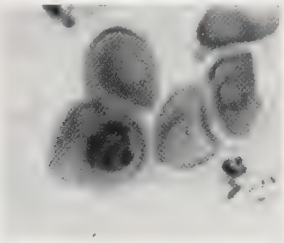

Abb. 4.

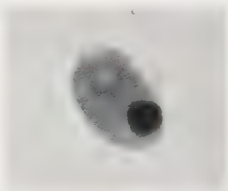

Abb. 5.

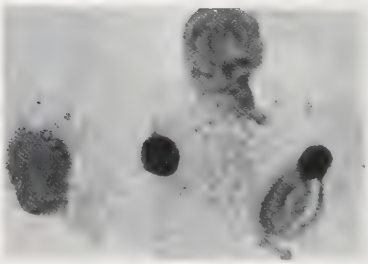

Abb. 6.

Kern waren gut erhalten, die Monocyten waren oft geschrumpft, und Plasma und Kern nicht deutlich zu trennen. Es ist nach unserer Ansicht deutlich zu unterscheiden, ob ein Plättchen *in* oder *auf* dem Erythrocyten gelagert ist. Genau so, wie sich bei mikroskopischer Betrachtung des Normoblasten Niveaudifferenzen des Kernes und des Plasmas durch ganz minimale Verschiebungen der Mikrometerschraube erkennen lassen, so auch bei den Plättchenkernen. Ein daraufgelagertes, nicht zum Erythrocyten gehöriges Plättchen bot mikroskopisch viele größere Niveaudifferenzen.

Knochenmarksbefunde: Bei den mit Phenylhydrazin chronisch vergifteten Tieren finden sich im Knochenmark keine Fettlücken, die Erythropoese ist äußerst gesteigert und überwiegt bei weitem die Leuko-

poese, alle erythrocytären Vorstufen bis zu den Erythrogonien sind vorhanden. Das Knochenmark der akut mit Phenylhydrazin vergifteten Tieren hat weniger Fettlücken als ein normales Tier, auch hier überwiegt die Erythropoese die Leukopoese. Bei den Saponintieren ist das Fettgewebe des Markes leicht vermehrt, die Erythropoese ist um weniges vermindert, es finden sich sehr viele Normoblasten (viele caryorrhektische Formen), wenige erythrocytäre Vorstufen, die Leukopoese überwiegt die Erythropoese. In Leber und Milz aller Tiere fanden sich keine Knochenmarksriesenzellen. Bei den Phenylhydrazintieren wurden in Leber und Milz viele Normo- und Erythroblasten angetroffen, bei den Saponintieren wenige Normoblasten.

Die Megacaryocyten wurden in 400—500 Gesichtsfeldern (Zeiss, Ok 4, $^1/_{12}$ Immers.) der 4—5 μ dicken Schnitte ausgezählt. Die durchschnittliche Zahl in 100 Gesichtsfeldern wurde den vergleichenden Betrachtungen zugrunde gelegt. Es liegt in der Natur des Materials, daß bei dieser Zählung Fehler auftreten müssen; es wurde deshalb, um die Fehler nicht noch durch Multiplikation zu vergrößern, von einer absoluten Berechnung der Riesenzellen pro Kubikmillimeter Knochenmark, wie dies *Frey* angab, abgesehen. Nur solche Gesichtsfelder wurden für die Zählung verwandt, in denen eine annähernd gleiche Zahl myeloischer Zellen gesehen wurde; denn das Knochenmark, in welchem sich die Erythropoese vermindert, normal oder wenig gesteigert abspielt, ist im Gegensatz zu einem Knochenmark mit starker Regeneration mit vielen Fettlücken durchsetzt, so daß in vielen Gesichtsfeldern nur wenige myeloische Zellen, im übrigen nur Fettlücken zu sehen sind. Bei wahlloser Auszählung jedes Gesichtsfeldes ist die Zahl der Riesenzellen im Knochenmark mit Fettlücken natürlich wesentlich geringer als im stark regenerierendem Marke. Bei dieser Auszählungsmethode würde das quantitative Verhalten der Megacaryocyten nur eine Übersicht über die Stärke der Erythropoese geben. Wenn man das qualitative Verhalten der Riesenzellen vorläufig unberücksichtigt läßt, erscheint die Frage viel wichtiger, ob in Gesichtsfeldern mit zahlenmäßig annähernd gleichem Zellgehalt eine Vermehrung oder Verminderung der Riesenzellen festzustellen ist. Denn nur auf diese Weise könnte es entschieden werden, ob ein numerisch festgelegtes Verhältnis von Megacaryocyten zu myeloischen Zellen oder ob unbekümmert um die Hämatopoese eine wechselnde Zahl von Riesenzellen vorhanden ist, so daß man ohne Zwang diesen Zellen außer ihrer bisher noch unbekannten Aufgabe bei der Hämatopoese noch eine andere Funktion z. B. die Thrompoese zusprechen dürfte.

Das qualitative Verhalten der Riesenzellen bot in dem Knochenmark der verschiedenen Versuchstiere nicht unwesentliche Unterschiede. Die vorherrschenden reifen Megacaryocyten zeigten das bekannte Bild: der große, ovale, blaugefärbte Kern mit vielen, volantartig überein-

anderliegenden Vorbuckelungen und centraler Aufhellung, das Plasma in breitem Saume den central gelegenen Kern umschließend, durch Vorwölbungen und Einziehungen unregelmäßig begrenzt, fast homogen erfüllt mit den feinen azurophilen Granula. Die jungen Zellen zeigen im ganzen ein weniger barockes Bild: das Protoplasma hat regelmäßige Begrenzung, ist im Verhältnis zur Größe des Kernes von geringerem Umfange als bei den reifen Zellen, zwischen den weniger dicht und vor allem *um* den Kern liegenden Granula leuchtet das blaugefärbte Plasma hindurch; der Kern ist kleiner, in Färbung homogener und in Struktur einheitlicher. Von der jungen zur reifen Zelle konnten alle Übergänge beobachtet werden. Die jungen Megacaryocyten unterscheiden sich bei den Normal- und Phenylhydrazintieren wesentlich von den jungen Riesenzellen der Saponintiere. Diese sind bedeutend kleiner, der Kern ist rund und homogen tiefblau gefärbt; das Protoplasma farbt sich ganz schwach blau, es finden sich keine Granula in demselben. *Firket* hat diese Zellen als Megacaryocyten, die bei der Saponinvergiftung im Lymphoidstadium verharren, beschrieben. Das Ergebnis der Auszählung und Differenzierung der Knochenmarksriesenzellen ist in folgender Tabelle zusammengestellt:

	Gesamtzahl der Megacar.	davon: junge Megacar.	davon: reife Megacar.
Normaltiere	66	12	54
	72	16	56
	66	10	56
	76	14	62
Mit Phenylhydr. chronisch vergiftete Tiere	67	8	59
	70	9	61
	59	7	52
Mit Phenylhydr. akut vergiftetes Tier	60	10	50
Mit Saponin vergiftete Tiere	66	30	36
	78	36	42

Die Schwankungen in der Gesamtzahl, auch bei den Normaltieren, dürften zum Teil physiologisch, zum Teil durch die Unmöglichkeit exakter Auszählung bedingt sein. Da die Megacaryocyten sich fast immer in den Inseln, wo die Hämatopoese vonstatten geht, finden und sie an fettreichen Markstellen nur selten vorkommen, ist es wahrscheinlich, daß sie in enger Beziehung zur Hämatopoese stehen. Außerdem besteht die Möglichkeit, daß sie mit den Erythropoese in innigerem Zusammenhange stehen als mit der Leukopoese; denn sie liegen mit Vorliebe mitten in erythropoetischen Inseln. Nach den numerischen Feststellungen besteht ein relatives Verhältnis zur Erythropoese. Ihre absolute Zahl

ist dementsprechend bei starken Regenerationsvorgängen erhöht, also findet sich gesteigerte Erythropoese, gesteigerte Thrombopoese und absolute Vermehrung der Megacaryocyten gleichzeitig. Es ist demnach nicht unbedingt notwendig, eine Vermehrung der Thrombocyten ohne weiteres in Zusammenhang mit einer höheren Zahl von Knochenmarksriesenzellen zu bringen. *Svend Petri* entfernte mit einer Methode, die eine Anämisierung vermied, täglich beim Kaninchen die Blutplättchen. Er beobachtete weder eine absolute, noch eine relative Vermehrung der Megacaryocyten. Die Versuche sind also geeignet, einerseits den Zusammenhang zwischen Erythropoese und Megacaryocyten, andererseits die Beziehungslosigkeit zwischen Thrombocyten und Knochenmarksriesenzellen wahrscheinlich zu machen. *Petri* kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu einer Ablehnung der Wrightschen Theorie. Auch die qualitative Differenzierung der Riesenzellen der Normaltiere und der akut und chronisch vergifteten Phenylhydrazintiere wies keine erheblichen Unterschiede auf (s. Tabelle). Es wurde schon bei der Besprechung der Wrightschen Theorie darauf hingewiesen, daß die Granula der Megacaryocyten und Thrombocyten in Form und Färbbarkeit Unterschiede aufweisen. Auch bei diesen Versuchen erschienen die Granula der Riesenzellen feiner als die gröberen der Plättchen, sie färbten sich nach Giemsa hellrot, während die Thrombocytengranula eine dunklere, bläulichrote Farbe annahmen. Eine Vermehrung der jungen und entsprechende Verminderung der reifen Riesenzellen findet sich bei den Saponintieren. Es wurde bereits erörtert, daß bei diesen Versuchen die Erythropoese toxisch stark geschädigt war, so daß man auch hier eher an einen Zusammenhang mit dieser als mit der Thrombopoese denken möchte.

Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, daß zwischen Erythropoese und Plättchenzahl ein sehr enger Zusammenhang besteht. Es wurde darauf hingewiesen, daß bei Größenzunahme der Erythrocyten auch die Thrombocyten an Größe zunehmen. Die Kernnatur der Blutplättchen und ihr histologischer Zusammenhang mit den Erythrocyten konnte durch die Fixationsmethode *Schillings* bestätigt werden. Ein Anhalt für die Entstehung der Blutplättchen aus den Knochenmarksriesenzellen konnte weder aus Zahl noch Struktur der Megacaryocyten gewonnen werden. Es wird die Vermutung ausgesprochen, daß Zahl und Beschaffenheit der Knochenmarksriesenzellen in einem Verhältnis zur Erythropoese stehen.

Literatur.

[1] *Arnold*, Zbl. Path. **8**. — [2] *Aynaud*, Le globulin des mammifères **1908**. — [3] *Bizzozero*, Virchows Arch. **90** (1882). — [4] *Boettcher*, Virchows Arch. **1866**, 36. — [5] *Brieger*, Dtsch. med. Wschr. **1920**, 438. — [6] *Deethen*, Virchows Arch. **164** (1901). — [7] *Degwitz*, Fol. haemat. (Lpz.) **25** (1920) — Z. exper. Med. **11** (1921) — Dtsch. med. Wschr. **1921**, H. 1. — [8] *Engel*, Arch. mikrosk. Anat. **42** (1893). — [9] *Firket*,

zit. nach Askanazy, in Henke-Lubarsch, Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie **1**. Berlin 1927. — [10] *Frank*, Schittenhelms Handbuch **2**. Abbildungen S. 354, 355 (1925). — [11] *Frey*, Frankf. Z. Path. **36**, H. 3. — [12] *Gaspar*, Frankf. Z. Path. **34** (1926). — [13] *Gordon*, Virchows Arch. **262** (1926). — [14] *Gutstein* u. *Wallbach*, Virchows Arch. **263** (1927). — [15] *Helber*, Dtsch. Arch. klin. Med. **82** (1905). — [16] *Hirschfeld*, Virchows Arch. **164** (1901). — [17] *Kopsch*, Anat. Anz. **19** (1901). — [18] *Maximow*, Arch. f. Abat. **1899**, Abt. 1. — [19] *Ogata*, Beitr. path. Anat. **82** (1912). — [20] *Pappenheim*, Virchows Arch. **145** (1896). — [21] *Preisich* u. *Hein*, Virchows Arch. **168** (1904). — [22] *v. Rockay*, Klin. Wschr. **1926**, H. 2 u. 17. — [23] *Rosenthal* u. *Falkenheim*, Arch. f. exper. Path. **92** (1922). — [24] *Schilling, V.*, Fol. haemat. (Lpz.) **14** (1912) — Dtsch. med. Wschr. **1918**, H. 49; **1920**, H. 46; **1921**, H. 30 — Virchows Arch. **234** (1921); **265** (1927) — Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie **6**, 2 (1928). — [25] *Schilky*, Z. klin. Med. **91** (1921). — [26] *Schridde*, Anat. H. **30** (1907). — [27] *Seeliger*, Fol. haemat. (Lpz.) **29** (1923). — [28] *Stahl*, Z. klin. Med. **1923**, 96 — Dtsch. Arch. klin. Med. **1920**, 132. — [29] *Stahl, Horstmann, Hilnitz*, Virchows Arch. **257**. — [30] *Petri, Svend*, Arch. f. path. et microbiol. **3**, H. 1 (1926). — [31] *Schwalbe*, Anat. Anz. **20** (1902). — [32] *Wittkower*, Z. exper. Med. **25** u. **26** (1921). — [33] *Wright*, Virchows Arch. **186** (1906).

Lebenslauf.

Ich, *Richard Duesberg*, wurde am 19. Juli 1903 als Sohn des Kaufmanns Karl Duesberg zu Bad Kreuznach geboren. Nach 4 jähriger Vorbildung in der Elementarschule besuchte ich 9 Jahre lang das Humanistische Gymnasium in Kreuznach, an welchem ich Ostern 1922 das Abiturientenexamen bestand. Ich wurde im S.-S. 1922 in Tübingen für das Fach der Medizin immatrikuliert und studierte dort 5 Semester. Hierauf war ich je ein Semester in München und Wien, dann 3 Semester in Berlin, wo ich im Juli 1927 das ärztliche Staatsexamen mit dem Urteile „sehr gut" bestand. Am 1. September 1927 trat ich als Medizinalpraktikant in die 1. Med. Klinik der Charité ein, wo ich heute noch tätig bin. Die Approbation als Arzt erhielt ich am 1. September 1929.